

Cellule L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Informații generale****Description**

Linia celulară L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C este un model de limfom de șoarece utilizat pe scară largă pentru testarea genotoxicității in vitro, în special în testul de mutație a genei timidină kinază (TK) din limfomul de șoarece (MLA). Această clonă a fost derivată din linia celulară parentală L5178Y, stabilită dintr-un limfom timic indus de metilcolantren în șoareci DBA-2. Subclona 3.7.2C a fost dezvoltată special pentru a fi heterozigotă la locusul TK (TK+/-), permițând selecția mutațiilor TK-/- prin evenimente de pierdere a heterozigotității.

Celulele L5178Y TK+/- 3.7.2C se caracterizează prin timpul rapid de dublare a populației (aproximativ 8-11 ore) și numărul modal stabil de cromozomi de 40. Acestea prezintă un cariotip complex, incluzând fuziuni robertsoniene și translocații specifice. Gena p53 este mutată în aceste celule, cu un alel care poartă o mutație nonsens în exonul 4 și celălalt un alel care poartă o mutație missense în exonul 5, ceea ce duce la pierderea funcției normale a p53. Acest fond genetic sporește utilitatea lor pentru studierea efectelor clastogene și mutagene.

Organism Șoarece**Tissue** Timus**Disease** Limfom timic la șoarece**Synonyms** L5178Y TK+/-3.7.2c, TK+/- (clona 3.7.2C)**Caracteristici****Breed/Subspecies** DBA/2**Age** 8 luni**Gender** Femei**Morphology** Ca limfoblastul**Cell type** Celula T**Growth properties** Suspensie**Date de reglementare****Citation** Clona L5178Y TK+/- (3.7.2C) (număr de catalog Cytion 305485)

Celule L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6665**Date biomoleculare****Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Adăugați în mediu 10% FBS și 0,1% Pluronic F-68**Subculturing** Se adună celulele în suspensie într-un tub de 15 ml și se spală ușor celulele aderente cu PBS lipsit de calciu și magneziu (se utilizează 3-5 ml pentru flacoane T25 și 5-10 ml pentru flacoane T75). Se aplică Accutase (1-2 ml pentru flacoane T25, 2,5 ml pentru flacoane T75) asigurând acoperirea completă a stratului celular. Se lasă celulele să se incubeze la temperatura camerei timp de 10 minute. După incubare, se combină și se centrifughează atât suspensia, cât și celulele aderente. După centrifugare, resuspendați cu atenție peletul celular și transferați suspensia celulară în flacoane noi care conțin mediu proaspăt.**Seeding density** 0,1-2 × 10⁶ celule/ml**Fluid renewal** de 2 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** Diluați imediat în 25 ml mediu de cultură (standard: 8 ml)**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, utilizăm 95% (v/v) FBS + 5% (v/v) DMSO + 0,1% Pluronic F-68 pentru a asigura o viabilitate adecvată după decongelare, sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care conține osmoprotectori și stabilizatori metabolici optimizați pentru a îmbunătăți recuperarea și a reduce stresul indus de crioconservare.

Celule L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Celule L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.